

# Avaliação do potencial antidiabético de extratos de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) O. Kuntze (araucária) em modelo de toxicidade induzida pela glicose em *Caenorhabditis elegans*

Heloísa Machado dos Santos<sup>1</sup>  
Gabrielle Alice Adão<sup>1</sup>  
Pedro Henrique Fonseca Ramalho Wigand<sup>1</sup>  
Rayssa Cavalli<sup>1</sup>  
Cristiane Denardin<sup>2</sup>  
Jean Ramos Boldori<sup>2</sup>  
Graciele Cristiane More Manica Benetti<sup>1</sup>  
Greicy Michelle Marafiga Conterato<sup>3</sup>

## RESUMO

O diabetes mellitus (DM) é caracterizado pela hiperglicemia devido à deficiência na produção ou secreção de insulina, afetando especialmente a população jovem em países em desenvolvimento. A *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze tem mostrado potencial antioxidante e inibidor da  $\alpha$ -amilase, uma enzima relevante na digestão de carboidratos. Este estudo avaliou o potencial antihiper-glicêmico *in vitro* e a toxicidade *in vivo* de extratos de brácteas e sementes de *A. angustifolia*. Os extratos foram obtidos por diferentes processos, como extração por Soxhlet (utilizando etanol 70° ou 96° GL ou ainda, acetato de etila como solvente) e extração exaustiva (com etanol 96° GL) e analisados quanto ao perfil de compostos fenólicos por HPLC-DAD. Os extratos de brácteas BHA70 e BHA96 apresentaram os maiores teores de compostos fenólicos. Porém, os extratos BEE e BAE inibiram eficazmente a  $\alpha$ -amilase pancreática, sugerindo potencial desses dois extratos para reduzir a hiperglicemia pós-prandial. A toxicidade foi avaliada em *Caenorhabditis elegans*, com o extrato BHA70 não mostrando efeitos adversos na sobrevivência, reprodução ou longevidade dos nematódeos. Esses resultados indicam que os extratos de *A. angustifolia* são promissores para o tratamento do diabetes e ressaltam a necessidade de mais estudos para confirmar sua eficácia e segurança em modelos *in vivo*.

**Palavras-chave:** Alfa amilase; Bioatividade; Diabetes; Nematóide.

## INTRODUÇÃO

O Diabetes Mellitus (DM) é um distúrbio metabólico caracterizado por níveis elevados de glicose no sangue devido à resposta inadequada ou à falta de produção de insulina. A doença é especialmente prevalente em países em desenvolvimento, onde ocorrem 80% dos casos, afetando cada vez mais os jovens (Edgerton *et al.*,

<sup>1</sup> Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Curitiba - SC

<sup>2</sup> Fundação Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Uruguai - RS

<sup>3</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre - RS

Autor correspondente: heloisasantos10@outlook.com



2017; WHO, 2020). A *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze possui grande importância econômica, cultural e social (Carvalho, 1994). De acordo com Mozzer (2022), os extratos hidroetanólicos de brácteas de araucária apresentaram excelente potencial antioxidante *in vitro*, o que sugere que são promissoras para tratamento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo, como o diabetes. O nematódeo *Caenorhabditis elegans* é utilizado como modelo experimental por ser de fácil cultivo e compartilhar processos biológicos relevantes com humanos, sendo ideal para estudos de toxicidade (Manaharan *et al.*, 2014; Haseeb *et al.*, 2022). Assim, este estudo teve como objetivo avaliar o potencial antidiabético e a toxicidade dos extratos de brácteas e sementes de araucária em *in vitro* e em *C. elegans*.

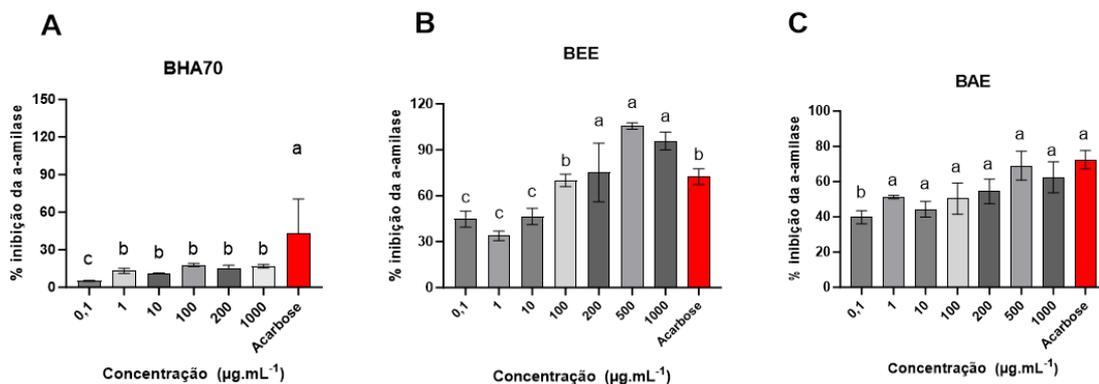
## MATERIAL E MÉTODOS

Extratos de brácteas BHA70 e BHA96 e de sementes (SHA96) foram obtidos por extração hidroalcoólica (com etanol 70° ou 96° GL) em Soxhlet. Os extratos hidroalcoólicos das brácteas e sementes também foram preparados por extração exaustiva (BEE, SEE). O extrato aceto-etílico das brácteas (BAE) foi extraído em Soxhlet usando acetato de etila. A quantificação dos compostos fenólicos nos extratos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD), com validação do método, incluindo linearidade, LOD e LOQ. A atividade anti-hiperglicêmica foi avaliada pelo método de inibição da enzima  $\alpha$ -amilase pancreática, usando extratos diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) e incubados a 25°C com tampão PBS (pH = 7,0), substrato amido e com a enzima  $\alpha$ -amilase pancreática porcina. Após 10 min de incubação, a reação foi interrompida pela adição do ácido dinitrosalicílico (DNS) e a absorbância foi registrada em 520 nm. A acarbose foi usada como controle positivo para a atividade antihyperglicêmica (González-Figueiredo *et al.*, 2016). A toxicidade do extrato BHA70 foi testada em *C. elegans* (cepa N2), expondo-se os vermes a diferentes concentrações do extrato BHA70. Os resultados foram analisados por ANOVA e teste de Tukey, considerando significância para  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os extratos BEE e BAE apresentaram inibição da  $\alpha$ -amilase pancreática em todas as concentrações testadas. O BEE demonstrou inibição enzimática superior à inibição pela acarbose nas concentrações de 200 a 1.000  $\mu\text{g/mL}$ , enquanto o BAE apresentou inibição comparável a da acarbose a partir da concentração de 1  $\mu\text{g/mL}$  (Figura 1). Este estudo é o primeiro a relatar a presença dos compostos fenólicos ácido 3,4-dihidroxibenzóico, ácido vanílico, ácido cinâmico e 2-(4-hidroxifenil)etanol nas brácteas de *A. angustifolia*. Esses compostos estão associados a várias atividades biológicas previamente descritas, como propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antitumorais e neuroprotetoras (Sharma *et al.*, 2020; Ruwizhi; Aderibigbe, 2020). No entanto, os extratos das sementes apresentaram níveis de compostos fenólicos abaixo do limite de detecção (LOD) do método.

**Figura 1** – Avaliação do efeito dos extratos de araucária sobre a atividade da  $\alpha$ -amilase pancreática de suíno. (A) Avaliação do extrato BHA70; (B) Avaliação do extrato BEE; (C) Avaliação do extrato BAE.



Dados são apresentados como Média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) de 3 repetições independentes para cada extrato. Letras diferentes no topo de cada barra indicam resultados diferentes entre si (ANOVA de uma via/Tukey,  $p < 0,05$ ).

Os dois extratos de brácteas, o BEE e BAE, demonstraram atividade anti-hiperglicêmica *in vitro* por meio da inibição da enzima  $\alpha$ -amilase pancreática. A inibição dessa enzima é relevante, uma vez que levaria ao retardo da digestão do amido, reduzindo a absorção intestinal de glicose e auxiliando no controle da hiperglicemia pós-prandial, um mecanismo crucial no tratamento do diabetes (Mazzucchelli *et al.*, 2015). A toxicidade do extrato BHA70 foi avaliada em *C. elegans*, e os resultados mostraram que não houve impacto desse extrato na sobrevivência, reprodução e longevidade dos nematoides, indicando segurança em todas as concentrações testadas. Esses achados corroboram com estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa que demonstraram a baixa citotoxicidade do BHA70 em células tumorais humanas, preservando células saudáveis (Rocha, 2023). Estes são os primeiros dados disponíveis sobre a toxicidade de *A. angustifolia* e extratos de araucária em *C. elegans* e servirão de base para estudos futuros. O modelo de toxicidade está sendo otimizado para avaliar o extrato em altas concentrações de glicose, e estudos adicionais são necessários para confirmar a segurança em outras espécies e investigar a toxicidade dos extratos BEE e BAE.

## CONCLUSÃO

Os extratos de brácteas de *A. angustifolia* demonstraram atividade anti-hiperglicêmica *in vitro* ao inibirem a enzima  $\alpha$ -amilase pancreática. Esses resultados sugerem que os extratos têm potencial como agentes terapêuticos no controle do diabetes, contribuindo para o controle da hiperglicemia. Estudos futuros, incluindo investigações *in vivo*, são necessários para confirmar a segurança e eficácia desses extratos e explorar seu uso no manejo do diabetes.

## REFERÊNCIAS

CARVALHO, P. E. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa, v. 1, 1994.

EDGERTON, D. S. *et al.* Insulin's direct hepatic effect explains the inhibition of glucose production caused by insulin secretion. **JCI Insight**, 2017, v. 2, n. 6, 2017. DOI: 10.1172/jci.insight.91863. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5358484/>. Acesso em: 20 ago. 2024.

GONZÁLEZ-FIGUEIREDO, M. *et al.*  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitors from *Myrcia* spp.: a stronger alternative to acarbose? **Journal of Pharmaceuticals and Biomedical Analysis**, v. 118, p. 322-327, 2016.

HASEEB, U. R. *et al.* Phytochemical and toxicological evaluation of *Zephyranthes citrina*. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 1-15, 2022.

MAZZUCHELLI, C. *et al.* Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2015: A patient-centered approach. Update to a position statement of the American diabetes association and the European association for the study of diabetes. **Diabetes Care**, v. 38, n. 8, p. 140–149, 2015.

MANAHARAN, T. *et al.* In vivo toxicity evaluation of a standardized extract of *Syzygium aqueum* leaf. **Toxicology Reports**, v. 1, p. 718-725, 2014.

MOZZER, W. K. **Prospecção de extratos de brácteas e sementes de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) O. Kuntze**: perfil de compostos fenólicos e avaliação do potencial antioxidante in vitro. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/244311>. Acesso em: 20 ago. 2024.

ROCHA, M. F. **Potencial antitumoral de extratos de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) O. Kuntze em linhagens celulares de câncer de mama**. 2023. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2023.

RUWIZHI, N.; ADERIBIGBE, B. A. Cinnamic acid derivatives and their biological efficacy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 16, p. 5712, 2020.

SHARMA, N. *et al.* An overview of therapeutic effects of vanillic acid. **Plants Archives**, v. 20, n. 2, p. 3053–3059, 2020.

**WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION**. Diabetes. 2021. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>. Acesso em: 20 ago. 2024.